

Untersuchungen zur cytoprotektiven Wirkung
von Carbenoxolon auf die Magenschleimhaut
des Menschen

von

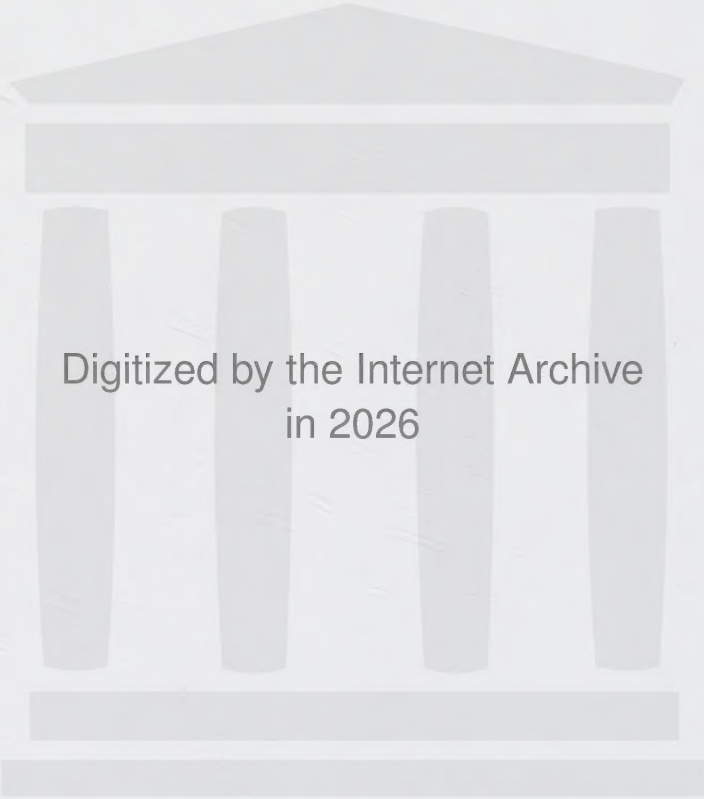
Monika Sporer

aus

Furth i. Wald

Diss. Erlangen
1984





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546206_0107

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. med. L. Demling

Untersuchungen zur cytoprotektiven Wirkung von Carbenoxolon auf die Magenschleimhaut des Menschen

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Monika Sporer

aus

Furth i. Wald

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf
Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Ruppin
Korreferent: Prof. Dr. L. Demling
Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.1984

1. Einleitung

1.1. Ausgangspunkt und Zielsetzung

1.2. Forschungsfrage

1.3. Zielsetzung und Hypothesen

1.4. Methodische Vorgehensweise

1.5. Bedeutung der Untersuchung für die Fachwissenschaft

1.6. Zusammenfassung

1.7. Literaturverzeichnis

1.8. Anhang

1.9. Zusammenfassung und Ausblick

1.10. Literaturverzeichnis

1.11. Anhang

1.12. Zusammenfassung

2. Ergebnisse

2.1. Ergebnisse der ersten Untersuchung: Zusammenfassung der
Hauptergebnisse und Diskussion

2.2. Ergebnisse der zweiten Untersuchung: Zusammenfassung der
Hauptergebnisse und Diskussion

2.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

2.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

2.5. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

2.6. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

2.7. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

3. Diskussion

3.1. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse

3.2. Zusammenfassung der Ergebnisse der beiden Untersuchungen
und Diskussion der Ergebnisse



Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Material und Methoden
 - 2.1. Versuchspersonen
 - 2.1.1. Alter und Körpergewicht
 - 2.2. Versuchsanordnung
 - 2.3. Bestimmung des Turnovers der Magenschleimhaut
 - 2.3.1. Magenwaschung
 - 2.3.2. DNA-Bestimmung
 - 2.4. Statistik
 - 2.5. Reagentien und Geräte
 - 2.5.1. Reagentien
 - 2.5.2. Geräte
 - 2.5.3. Medikament
3. Ergebnisse
 - 3.1.1. Basale und Äthanol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im Akutversuch
 - 3.1.2. Alkohol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im Akutversuch mit und ohne Carbenoxolon
 - 3.1.3. Alkohol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im chronischen Versuch mit und ohne Carbenoxolon
 - 3.2. Nebenwirkungen von Carbenoxolon im Langzeitversuch
 - 3.2.1. Wirkung auf den Blutdruck
 - 3.2.2. Wirkung auf den Natrium- und Kalium-Blutserumspiegel
 - 3.2.3. Subjektive Beschwerden
4. Diskussion
 - 4.1. Zellturnover und seine Beeinflussung durch Carbenoxolon - Literaturübersicht
 - 4.2. Wirkung von Carbenoxolon auf den basalen Zellturnover der Magenschleimhaut beim Magengesunden



- 4.3. Wirkung von Carbenoxolon auf den Äthanol-induzierten Zellturnover der Magenschleimhaut beim Magengesunden
- 4.4. Deutung der Ergebnisse
 - 4.4.1. Wirkung von Carbenoxolon auf die Mukussekretion
 - 4.4.2. Auswirkungen der Alkoholschädigung der Magenschleimhaut auf die DNA-Bestimmung
 - 4.4.3. Dauer der Wirkungsentfaltung des Carbenoxolons
 - 4.4.4. Wertigkeit der Zellabschilferung als Maß für die Zytoprotektion
 - 4.4.5. Wertigkeit der Untersuchungsmethode
- 5. Zusammenfassung

1. Einleitung

Carbenoxolon ist das Dinatriumsalz eines halbsynthetischen Bernsteinsäureesters der Glycyrrhetinsäure. Letztere stellt das Aglykon der Glycyrrhizinsäure, eines aus Süßholzextrakt isolierten Diglukuronsäure-Glykosids, dar (s. Abb. 1).

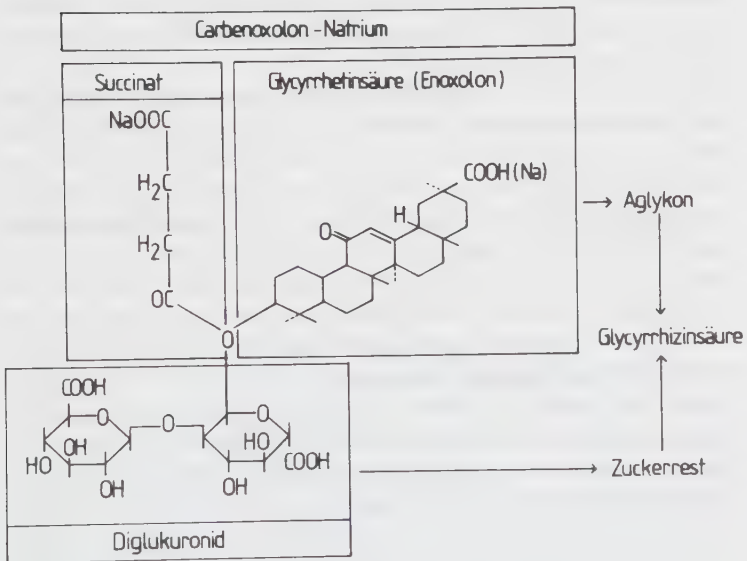


Abb. 1: Strukturverhältnisse von Glycyrrhizin(säure) und Carbenoxolon (aus 13)

Das "Süßholz" wird schon um 800 v. Chr. zur innerlichen Anwendung bei "Magenleiden" empfohlen. Um die Jahrtausendwende verschreibt es Plinius d. Ältere als "Magenmittel". Besonders beliebt war von den galenischen Zubereitungen der eingedickte, getrocknete Süßholzsaft, *Succus liquiritiae*, im deutschsprachigen Raum als "Lakritze", im angelsächsischen als "liquorice" und im französischen als "régliste" bekannt. Im 19. Jahrhundert bestimmten Pfaff und Robiquet die qualitative Zusammensetzung des Extraktes und des isolierten Süßstoffs, des Glycyrrhizins. Die Süßholzderivate wurden in dieser Zeit weiterhin zur Therapie von Magengeschwüren, aber auch in der Tabak- und Konfektherstellung gebraucht (13).

1959 gelang Turner und Wotton in England die Entwicklung des halbsynthetischen Glycyrrhetinsäure-Präparats Carbenoxolon.

Zahlreiche Doppelblinduntersuchungen haben in den letzten Jahren die ulkusheilende Wirkung des Carbenoxolons bewiesen (2, 8, 16, 19, 24, 25).

Die Ulzera von Magen und Duodenum resultieren letztlich fast immer aus peptischer Verdauung der Schleimhaut, die durch eine Störung des physiologischen Gleichgewichts zwischen aggressiven und protektiven Faktoren, nämlich durch das Überwiegen der aggressiven oder die Schwächung der protektiven Komponenten zustandekommt (13).

Während die meisten Ulkustherapeutika, wie z. B. Antazida oder Anticholinergika, eine Bekämpfung der aggressiven Faktoren, d. h. Säurepufferung oder Hemmung der Säuresekretion, erzielen, wirkt Carbenoxolon durch eine Unterstützung der protektiven Faktoren. Es "verstärkt" beide "Verteidigungslinien" der "Mukosafront", nämlich Schleim und Oberflächenepithel (13).

Nach Lipkin (20) kann sich eine intakte Schleimhautoberfläche bei der kurzen Lebensdauer der Zellen von nur einigen Tagen nur durch eine adäquate Geschwindigkeit der Epithelzellerneuerung aufrechterhalten. In seinen Untersuchungen über die Proliferationskinetik gastrointestinaler Epithelien stellte sich heraus, daß Carbenoxolon in der

Magenschleimhaut von Mäusen einen verlangsamten Zell-Turnover mit verlängerter Lebensdauer hervorruft (21).

Am menschlichen Magen wies Croft (3, 4) eine durch Carbenoxolon-Therapie induzierte Verlängerung der Zell-Lebensdauer und dadurch bedingte Verminderung des Epithelialverlustes nach. Diese Vorgänge gewährleisten die Intaktheit des Oberflächenepithels und verhindern damit die Ulkuserstehung.

Durch den längeren Verbleib im Oberflächenepithel sind die Zellen in der Lage, voll auszureifen und die maximale Fähigkeit zur Mukusproduktion (bzw. anderen Funktionen, wie Natriumtransport oder Bikarbonatsekretion) zu erlangen.

Die Schleimproduktion des Magens ist nach Verabreichung von Carbenoxolon nicht nur gesteigert, wie Goodier et al. am Tiermagen und am Resektionspräparat des Menschen aufzeigten (14, 15), sondern auch in ihrer Qualität bzw. Zusammensetzung verändert. Domschke et al. beschrieben beim Carbenoxolon-behandelten Ulkuspatienten einen signifikanten Anstieg der freien und gebundenen N-Azetyl-Neuraminsäure (9, 10). Die N-Azetyl-Neuraminsäure ist bekanntlich für die Viskosität, Kohäsivität und Adhäsivität des Schleims verantwortlich. Der auf diese Weise in seinen chemisch-physikalischen Eigenschaften "verbesserte" Schleim bietet der Magenmukosa einen wichtigen Schutz gegen physikalische Aggressoren, wie H^+ -Ionen, Gallensäuren, Lyssolezithin oder Medikamente, z. B. Azetylsalicylsäure (13).

Jeder dieser Prozesse - Steigerung der Epithelüberlebenszeit und positive Beeinflussung der Mukussekretion - unterstützt somit eine der zwei "Hauptverteidigungslinien" der Schleimhaut: Unter dem Schutz einer dickeren, qualitativ verbesserten Schleimdecke können Regenerationsvorgänge im Oberflächenepithel beschleunigt ablaufen. Durch die längere Lebensdauer der Zellen wird ein Vorranschreiten der Ulzeration verhindert.

Es liegt nun nahe, neben der ulkuserheilenden Wirkung des Carbenoxolons eine allgemein zytoprotektive Wirkung auf

die Magenschleimhaut des Gesunden zu vermuten. Zytoprotektion ist definitionsgemäß als Verhinderung nekrotisierender Vorgänge durch schädigende Agentien zu verstehen. Wenn dies auch für Carbenoxolon zuträfe, könnte diese Substanz zu einer effektiven Prophylaxe von Erosionen oder Ulzera der Magenschleimhaut beitragen.

Diese Fragestellung war der Anlaß für die vorliegende Untersuchung:

Bei sechs magengesunden Probanden wurde in einer randomisierten Doppelblindstudie nachgeprüft, ob die durch Alkohol induzierte Zeldesquamation durch Verabreichung von Carbenoxolon verhindert werden kann, sei es durch unmittelbare Wirkung der Substanz vor Äthanolgabe oder durch langfristige Behandlung mit dem Präparat Biogastrone®.

Das Versuchsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Klinik am 16. 1. 81 genehmigt.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchspersonen

2.1.1. Alter und Körpergewicht

Das Probandenkollektiv bestand aus drei magengesunden Frauen und drei magengesunden Männern mit einem Durchschnittsalter von 27,3 Jahren und einem mittleren Körpergewicht von 71,6 kg bei einer Durchschnittsgröße von 176,2 cm.

Die Versuchspersonen wurden nach voller Aufklärung über die geplanten Maßnahmen einschließlich der zu verwendenden pharmakologischen Substanzen und nach schriftlicher Einverständniserklärung in die Studie aufgenommen. Die Notwendigkeit und möglichen Schäden einer kurzdauernden

Röntgenkontrolle wurden erklärt. Bei weiblichen Probanden erfolgte zum Ausschluß einer Schwangerschaft ein Schwangerschaftstest unmittelbar vor der Studie.

2.2. Versuchsanordnung

Jeder Proband nahm an je einem Akutversuch mit dem Wirkpräparat Carbenoxolon bzw. dem Placebopräparat sowie je einem Langzeitversuch mit Carbenoxolon bzw. dem Placebopräparat und einem Kontrollversuch teil. In diesen Versuchen sollte sowohl die akute, als auch die chronische zytoprotektive Wirkung des Carbenoxolons auf die Magenschleimhaut auf vorausgegangene Einwirkung einer Noxe in Form von Äthanol (40 %) untersucht werden. Die Reihenfolge, in der die Probanden Biogastrone® bzw. das Placebopräparat erhielten, wurde vom Versuchsleiter ausgelost und war den Probanden nicht bekannt. Der Abstand zwischen den beiden Akutversuchen betrug eine Woche. In den je vier Wochen dauernden Langzeitversuchen wurden Carbenoxolon bzw. das Placebopräparat in der von Horwich und Galloway (1965) empfohlenen Standarddosierung (15) von 300 mg/die während der ersten Woche und 150 mg/die während der folgenden drei Wochen verabreicht. Zwischen den beiden Langzeitversuchen lag eine vierwöchige Pause, wobei zu deren Abschluß, d. h. zum Beginn der neuen vierwöchigen Einnahmepériode, ein Kontrollversuch durchgeführt wurde. Die zeitliche Anordnung der Versuche geht aus Abb. 2 hervor.

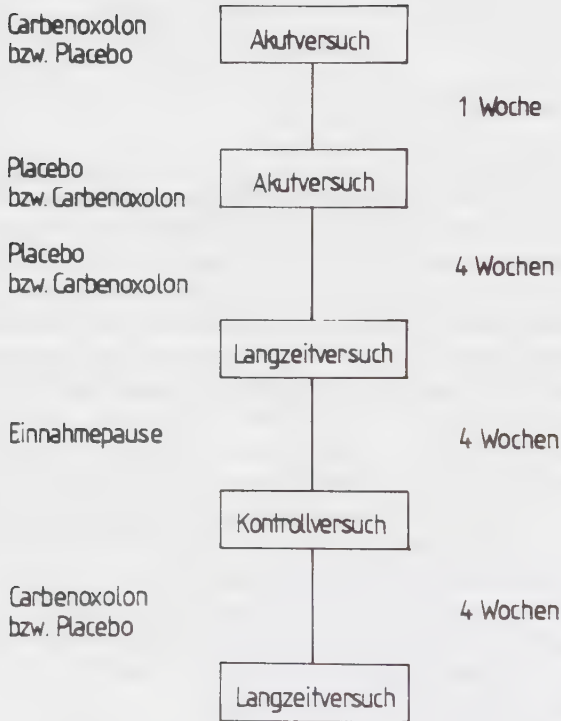


Abb. 2: Zeitliche Anordnung der Versuche

Vor und nach den Langzeitversuchen erfolgte jeweils eine Blutentnahme zur Bestimmung von Natrium und Kalium im Serum. Nach jedem Versuch wurde der Blutdruck der Probanden kontrolliert.

2.3. Bestimmung des Turnovers der Magenschleimhaut

2.3.1. Magenwaschung

Zur Bestimmung der Turnoverrate der Magenschleimhaut wurde ein von Croft und Mitarbeitern (6) entwickeltes Verfahren, das sog. "gastric washing", angewendet.

Zwei Magensonden mit einem Durchmesser von je 4 mm und einer Länge von 1,60 m bzw. 1,30 m wurden derart miteinander verbunden, daß die Öffnung der kürzeren Sonde 15 cm oberhalb der Öffnung der längeren lag. Die kurze Sonde diente zur Instillation, durch die längere wurde aspiriert (7). Siehe dazu Abb. 3.

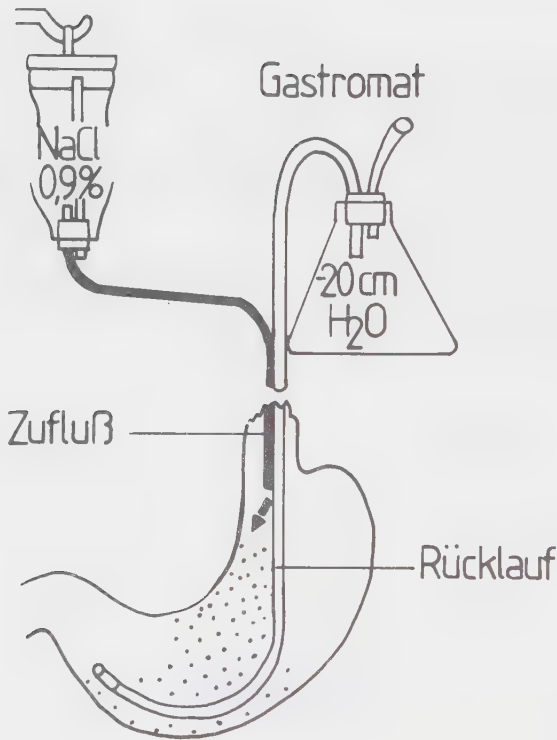


Abb. 3: Versuchsaufbau der Magenwaschung

Den Probanden war vor jedem Versuch eine 12-stündige Nahrungskarenz auferlegt. Die Untersuchungen erfolgten jeweils in den frühen Morgenstunden, um eventuelle Tageschwankungen ausschließen zu können.

Bei jeder Magenwaschung wurde der Magen jedes einzelnen

Probanden nach röntgenologischer Kontrolle der Position der Magensonde (distales Ende des langen Sondenanteils im Antrumbereich) mit 300-500 ml NaCl-Lösung (0,9 %) in 50ml-Portionen ausgespült (Vorspülung), die Fraktionen wurden jeweils reaspiert und anschließend verworfen. Alle infundierten Lösungen wurden vor Gebrauch auf Körpertemperatur angewärmt. Die Probanden waren angehalten, evtl. vorhandenen Speichel zu expectorieren und sich während des Versuchs regelmäßig von der linken Seite auf die rechte und zurück zu drehen, um eine Benetzung aller Magenschleimhautabschnitte mit den infundierten Lösungen zu gewährleisten.

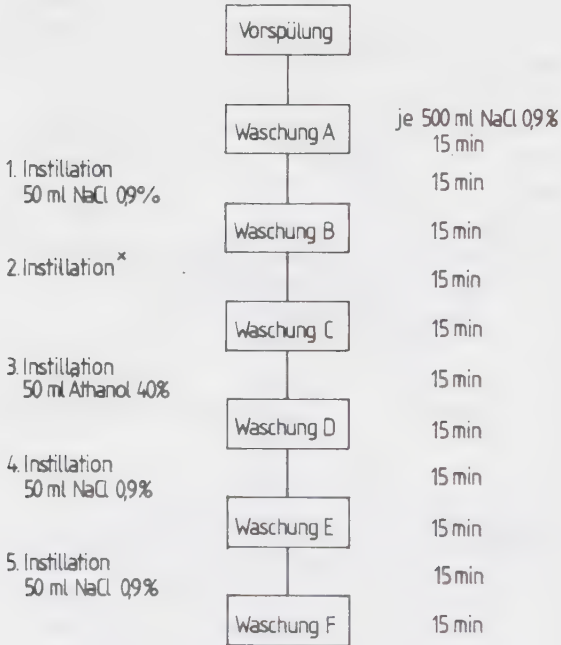
An die initiale Säuberung des Magens (Vorspülung) schlossen sich bei den Akutversuchen 5 Waschungen (A-E), bei den Langzeitversuchen 6 Waschungen (A-F) an.

Zwischen den einzelnen Waschungen lag je eine 15 Minuten dauernde Instillationsperiode. In den Akutversuchen erfolgten demgemäß vier, in den Langzeitversuchen fünf Instillationen.

Die erste, vierte und fünfte Instillation bestand sowohl in den Akut-, als auch in den Langzeitversuchen und im Kontrollversuch aus je 50 ml NaCl-Lösung (0,9 %). Die dritte Instillation bestand immer aus 50 ml Äthanol (40 %) (V/V). Die zweite Instillation variierte in den Akutversuchen, je nachdem ob das Wirkpräparat (300 mg Carbenoxolon-Na in 50 ml Aqua dest.) oder Placebo (50 ml NaCl-Lösung (0,9 %)) zur Anwendung kamen. In den Langzeitversuchen und im Kontrollversuch wurden bei der zweiten Instillation ebenfalls 50 ml NaCl-Lösung (0,9 %) verabreicht. Nach 15-minütiger Verweildauer der instillierten Lösungen im Magen wurden die Fraktionen wieder abgezogen und verworfen.

Auf jede Instillationsperiode folgte eine Waschung mit 500 ml NaCl-Lösung (0,9 %), die innerhalb von 15 Minuten durch die proximale Sondenöffnung infundiert und gleichzeitig mit Hilfe eines Gastromaten bei einem Unterdruck von 10-15 cm H₂O über die distale Sondenöffnung kontinuierlich abgesaugt wurden. Die oben beschriebene Versuchsanordnung ist

in Abb. 4 graphisch dargestellt.



* Instillation von 50 ml NaCl 0,9% bzw.
300 mg Carbenoxolon-Na in 50 ml Aqua dest.

Abb. 4: Versuchsanordnung

Jede einzelne während einer Waschung gewonnene Aspiratprobe wurde in einer eisgekühlten Flasche mit 2,5 ml 0,2 molarer EDTA-Lösung (pH 8) pro 100 ml Aspirat zur Inakti-

vierung zelleigener und pankreatischer DNA-sen (5) und 0,15 ml Rinderalbuminlösung (30 %) pro 100 ml Aspirat zur Unterstützung der DNA-Präzipitation (6) versetzt. Nach kräftigem Schütteln wurden 10 ml TCA (50 %) pro 100 ml Aspirat hinzugefügt, die ebenfalls die Proteinfällung fördern sollten (6). Daraufhin wurde jede Untersuchungsprobe mindestens 7 Tage lang tiefgefroren, um die Sedimentierung der Magenschleimhautzellen bei der weiteren Verarbeitung der Proben zu verbessern (6).

2.3.2. DNA-Bestimmung

Die Untersuchungsproben wurden bei Zimmertemperatur aufgetaut und anschließend 45 Minuten lang bei 4° C und 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, der Niederschlag mit 100 ml eisgekühlter TCA (5 %) suspendiert und erneut 45 Minuten lang bei 4° C zentrifugiert. Nach Verwerfung des Überstandes wurden zum Niederschlag 10 ml TCA (5 %) gegeben, der Ansatz im Wasserbad 15 Minuten lang bei 90° C hydrolisiert, auf Zimmertemperatur abgekühlt und 45 Minuten lang bei 2500 Umdrehungen/min zentrifugiert. Der Überstand wurde zur Aufbewahrung abgeschüttet. Das Sediment wurde ein zweites Mal mit 10 ml TCA (5 %) versetzt, 15 Minuten lang auf 90° C erhitzt, das abgekühlte Hydrolysat 45 Minuten zentrifugiert und der Überstand zur ersten Probe geschüttet. Das Hydrolysat wurde eingefroren.

Für die Diphenylaminreaktion wurden die aufgetauten Proben 60 Minuten lang bei 2500 Umdrehungen/min zentrifugiert und der Überstand gewonnen. 2 ml des Hydrolysats wurden mit 0,2 ml PCA (60 %) und 2 ml Diphenylaminreagenz versetzt. Die Herstellung des Diphenylaminreagenz erfolgte aus der Auflösung von 1 g Diphenylamin in 40 ml Eisessig, Zugabe von 1 ml konzentrierter Schwefelsäure, Auffüllung mit Eisessig auf 50 ml und Versetzen mit 0,25 ml Acetaldehyd-

lösung (2 ml Acetaldehyd ad 100 ml Aqua dest.).

Nach 48-stündiger Aufbewahrung der Proben im Eisschrank konnte die Extinktion bei 600 nm gegen einen Leerwert (2 ml TCA (5 %), 0,2 ml PCA (60 %) und 2 ml Diphenylaminreagenz) gemessen werden.

Ein DNA-Standard (1000 ng DNA-P) (18) ermöglichte die Anfertigung einer Eichkurve (s. Abb. 5).

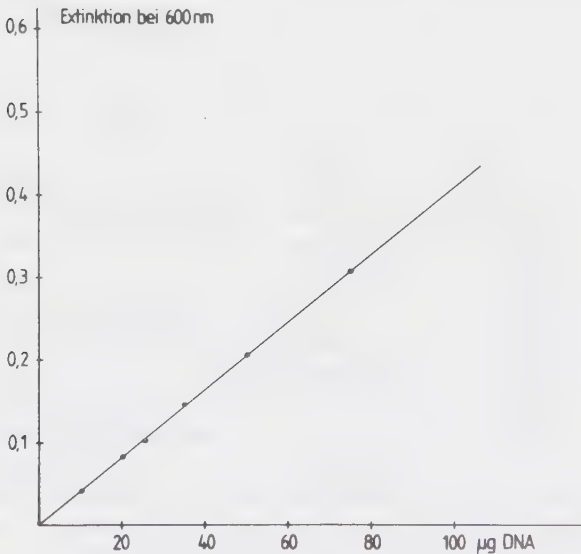


Abb. 5: Eichkurve der DNA-Messung

Die gemessenen Extinktionen der Diphenylaminreaktion wurden über die Eichkurve in DNA-Mengen umgewandelt und mit einem Korrekturfaktor (eingelaufene Menge/abgesaugte Menge) multipliziert, um Verluste der Spülflüssigkeit in den Dünndarm auszugleichen (7). Die Ergebnisse wurden dann auf die Aspirationszeit bezogen und in ng DNA/min ausgedrückt.

Da die Nachweismethode über den DNA-Phosphor verläuft, wurden die DNA-Mengen in ng DNA-P entsprechend dem Phosphorgehalt der Standardlösung umgerechnet.

2.4. Statistik

Nach Ermittlung von normalverteilten Meßreihen im Kolmogoroff-Smirnow-Test wurde im t-Test für homogene Varianzen die Irrtumswahrscheinlichkeit "p" berechnet (23).

Für signifikante Abweichung der die Carbenoxolon-behandelten Probanden betreffenden Werte von den Werten der Probanden, die das Placebopräparat erhalten hatten, wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ gefordert.

2.5. Reagentien und Geräte

2.5.1. Reagentien

Trichloressigsäure p. A.	E. Merck AG, Darmstadt
Perchlorsäure (60 %)	"
konz. Schwefelsäure	"
Essigsäure rein. (96%) z.A.	"
Acetaldehyd-Lösung (2%)	"
Natriumchlorid (0,9%) p.j. 500 ml Flaschen	Pfrimmer & Co., Erlangen
Serumalbumin vom Rind (30%)	Behringwerke AG, Marburg/L.
Diphenylamin p. A.	Serva Feinbiochemica GmbH & Co., Heidelberg
Desoxyribonucleinsäure	"
Äthanol absolut	Merck AG, Darmstadt
Äthylendiamintetra- essigsäure p. A.	Serva Feinbiochemica, GmbH & Co., Heidelberg

2.5.2. Geräte

Gastromat nach Dr. Otten- jann	Hirtz & Co., Hospitalwerk, Köln
Magensonden 4 mm	Fa. Rüsch, Waiblingen
Mechanische Pipetten Eppendorf	Netheler & Hinz, Hamburg
Photometer Eppendorf	
Infusionsbesteck Norma- fix	
Zentrifuge Martin Christ Typ UJ3	Fa. Christ, Osterode, Harz
Kühlzentrifuge Christ	

2.5.3. Medikament

Carbenoxolon

(Biogastrone®)

Placebo zu Biogastrone®

Fa. Chemiewerk Homburg,

Frankfurt/Main

Dosierung: 1. Woche: 300 mg/die

2., 3. und 4. Woche: 150 mg/die

3. Ergebnisse

3.1.1. Basale und Alkohol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im Akutversuch

Wie aus den Abbildungen 6 und 7 ersichtlich ist, steigert Alkohol (40 %) die Zellabschilferungsrate: In den Aspiratproben D und/oder E, die jeweils nach der Äthanolinstillation gewonnen worden waren, fand sich ein im Vergleich zu dem in den Proben B und C ermittelten erhöhter DNA-Gehalt.

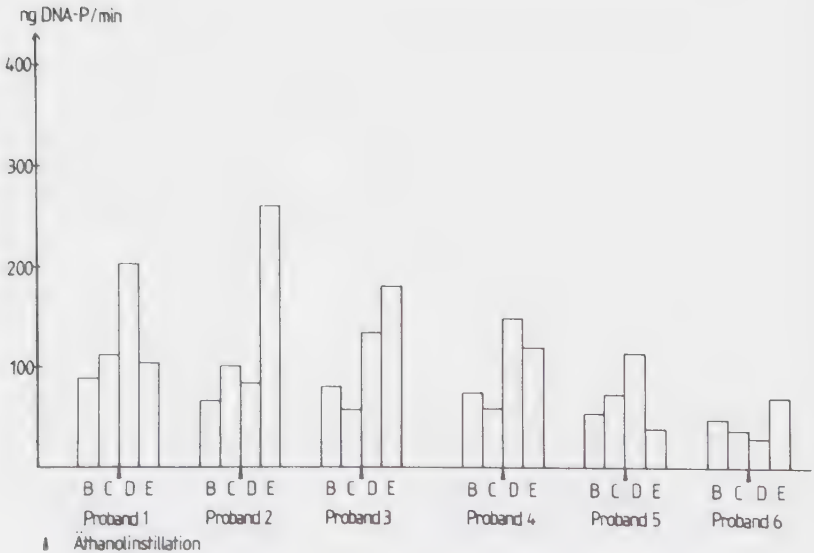


Abb. 6: Basale und Äthanol-induzierte Turnoverrate. Dargestellt sind die Einzelwerte.

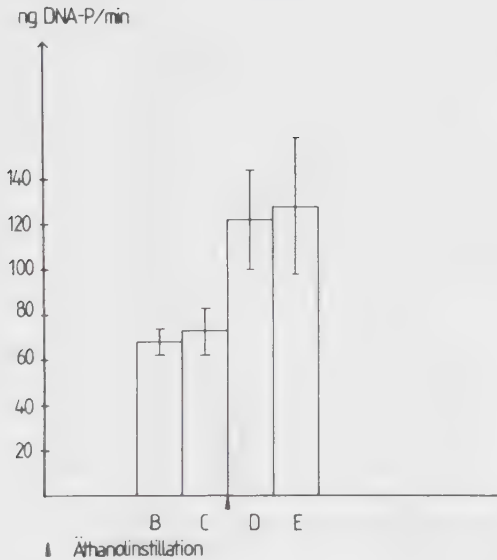


Abb. 7: Basale und Äthanol-induzierte Turnoverrate.
Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.

3.1.2. Alkohol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im Akutversuch mit und ohne Carbenoxolon

Die Wirkung von Alkohol auf den Zellturnover nach Vorbehandlung des Magens mit Carbenoxolon im Vergleich zum Placebo-behandelten Magen geht aus Abb. 8 hervor.

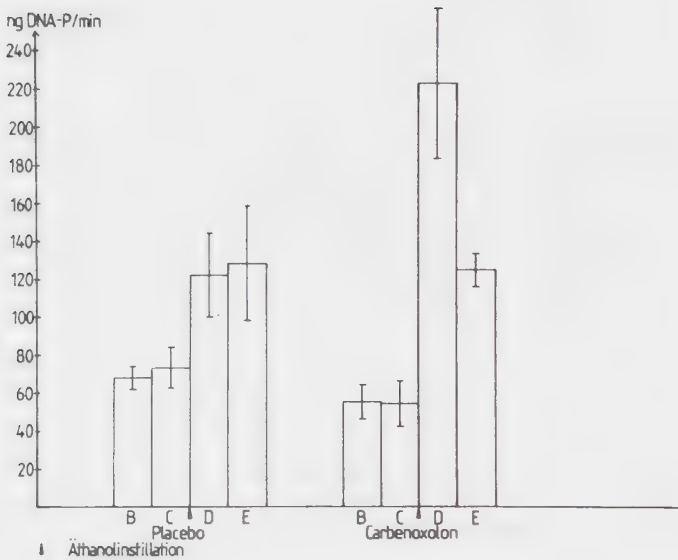


Abb. 8: Vergleich der Äthanol-induzierten Turnoverraten nach Vorbehandlung mit Placebo und Carbenoxolon. Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.

Die Anstiegsraten der Epithelzelldesquamation (Alkoholwert minus Basalwert) sind in Tabelle 1 aufgeführt. Als Alkoholwerte wurden die Ergebnisse aus den beiden letzten Waschungen (D und E) getrennt berechnet.

Um dem Leser einen bildlichen Eindruck zu vermitteln, wurden die Ergebnisse der Tab. 1 in Abb. 9 graphisch dargestellt.

Tab. 1: Anstiegsraten der Epithelzelldesquamation.
Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.
* $p < 0,05$

ng DNA-P/min Waschung	nach Placebo	nach Carbenoxolon
D	37,0 $\pm$ 22,04*	168,2 $\pm$ 48,94*
E	55,5 $\pm$ 30,49	70,2 $\pm$ 38,17

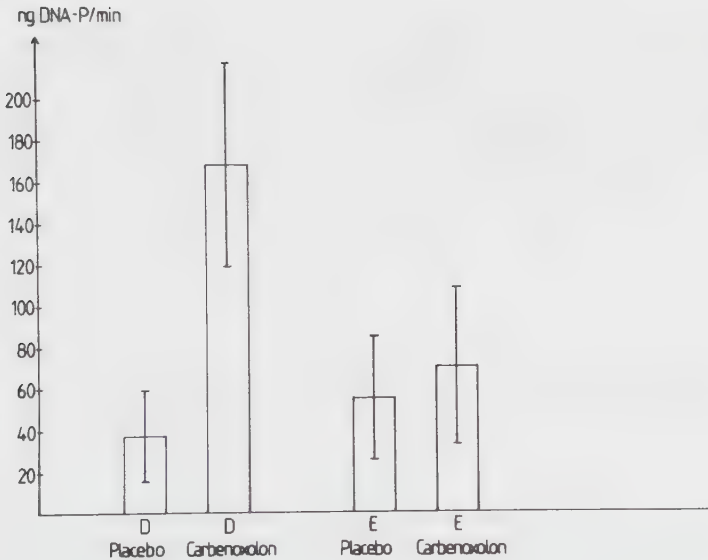


Abb. 9: Vergleich der Anstiegsraten der Epithelzelldesquamation nach Vorbehandlung mit Placebo und Carbenoxolon. Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.

Die Vorbehandlung der Magenschleimhaut mit Carbenoxolon hat einen verstärkenden Effekt auf die Äthanol-induzierte Epithelzelldesquamation. Dieser Effekt ist unmittelbar nach Äthanolinstillation (Waschung D) statistisch signifikant, während er 30 Minuten später nur noch visuell imponiert, statistisch aber nicht mehr zu sichern ist.

3.1.3. Alkohol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut im chronischen Versuch mit und ohne Carbenoxolon

Nach vierwöchiger Einnahme von Carbenoxolon bzw. dem Placebopräparat trat nach Äthanolinstillation ebenfalls eine gesteigerte Zellabschilferung auf. Abb. 10 zeigt dies in Form der Mittelwerte $\pm$ SEM anhand der Perioden D und E im Vergleich zu B und C.

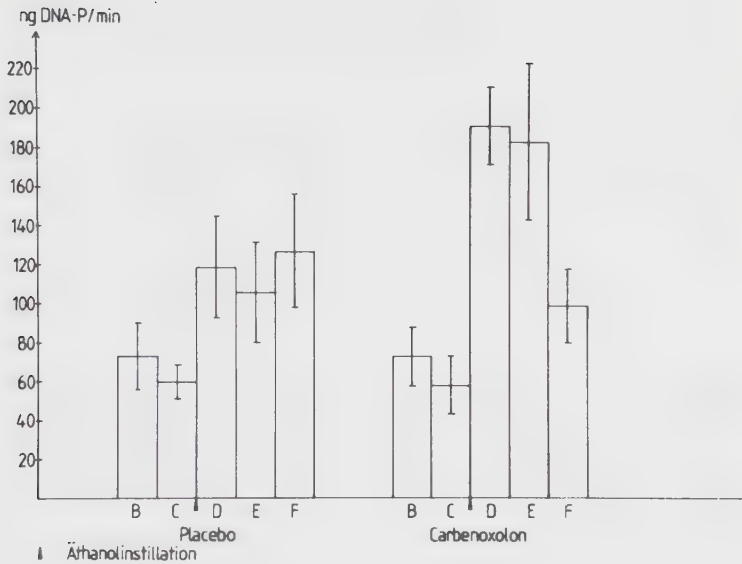


Abb. 10: Vergleich der Äthanol-induzierten Turnoverraten nach vierwöchiger Einnahme von Placebo und Carbenoxolon.

Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.

Die Anstiegsraten (D minus C bzw. E minus C bzw. F minus C) der Desquamation sind analog zu den Akutversuchen für die chronischen Versuche in Tab. 2 und Abb. 11 aufgeführt.

Tab. 2: Anstiegsraten der Epithelzelldesquamation.
Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM.

ng DNA-P/min Waschung	nach Placebo	nach Carbenoxolon
D	59,0 $\pm$ 22,78	134,0 $\pm$ 26,69
E	46,3 $\pm$ 22,20	125,7 $\pm$ 37,68
F	67,5 $\pm$ 31,59	42,0 $\pm$ 23,67

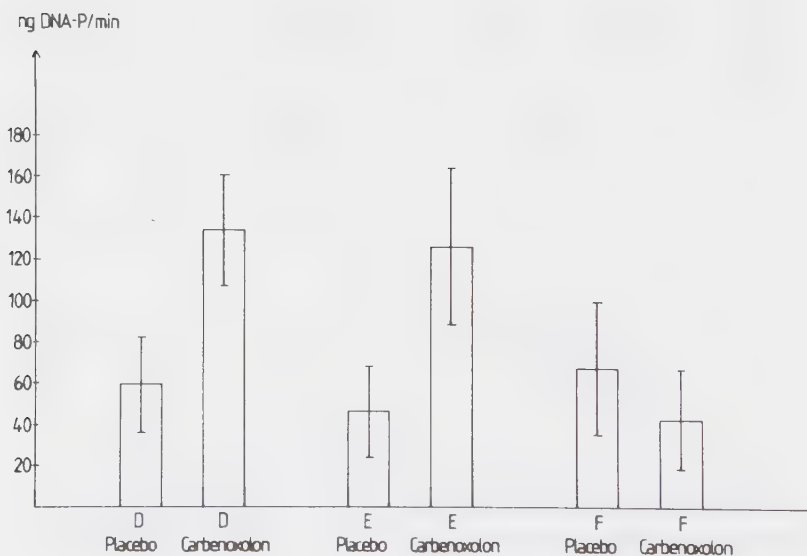


Abb. 11: Vergleich der Anstiegsraten der Epithelzelldesquamation nach 4-wöchiger Einnahme von Placebo u. Carbenoxolon. Dargest. sind Mittelw. $\pm$ SEM.

Auch in den Langzeitversuchen meint man eine stimulatorische Wirkung von Carbenoxolon auf die Alkohol-induzierte Epithelzelldesquamation zu erkennen; die Unterschiede sind jedoch nicht statistisch signifikant.

3.2. Nebenwirkungen des Carbenoxolons im Langzeitversuch

3.2.1. Wirkung auf den Blutdruck

Bei der Blutdruckkontrolle vor und nach der vierwöchigen Carbenoxolon-Einnahmeperiode trat bei zwei Probanden ein leichter RR-Anstieg von 120/80 auf 130/100 mmHg bzw. von 100/70 auf 120/80 mmHg auf. Bei zwei Probanden blieb der systolische Wert unverändert, der diastolische Wert stieg bzw. sank um 10 mmHg. Bei einem weiteren Probanden verminderte sich der RR-Wert geringfügig (vor Carbenoxolon 115/80 mmHg, nach 4-wöchiger Carbenoxoloneinnahme 110/70 mmHg). Ein Proband wies bei beiden RR-Kontrollen keinerlei RR-Differenz auf (s. Abb. 12).

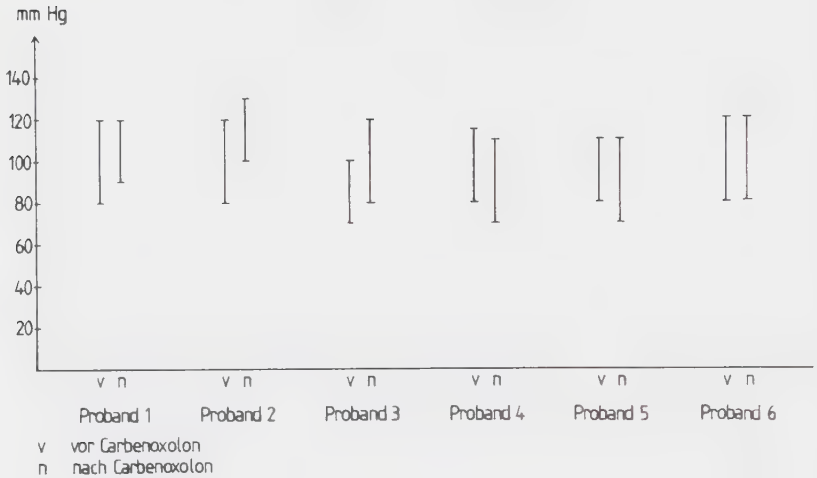


Abb. 12: Blutdruckwerte der Probanden vor und nach vierwöchiger Carbenoxolon-Behandlung

3.2.2. Wirkung auf den Natrium- und Kalium-Blutserumspiegel

Die Natriumwerte waren nach vierwöchiger Carbenoxoloneinnahme bei keinem der Probanden angestiegen, der Kalium-Serumspiegel jedoch bei den einzelnen Versuchspersonen um 0,1 mmol/l bis maximal 1,0 mmol/l abgefallen, bei einem Probanden war der K-Serumspiegel nach Carbenoxolon um 0,3

mmol/l höher als vorher (s. Abb. 13 und 14).

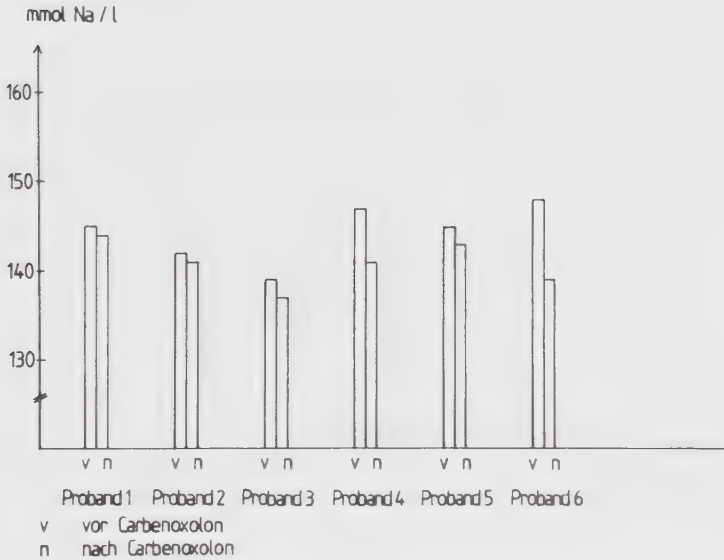


Abb. 13: Natrium-Serumwerte der Probanden vor und nach vierwöchiger Carbenoxolon-Behandlung

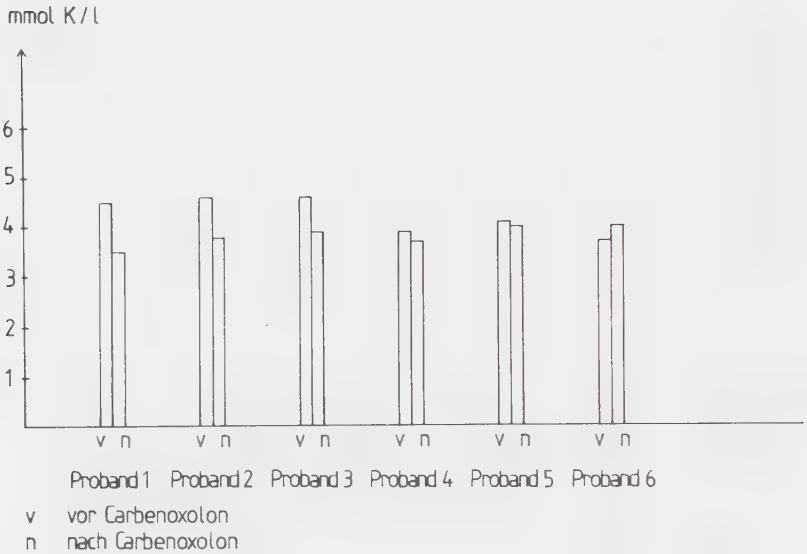


Abb. 14: Kalium-Serumwerte der Probanden vor und nach vierwöchiger Carbenoxolon-Behandlung

3.2.3. Subjektive Beschwerden

Während zwei der Probanden über die vierwöchige Einnahmeperiode hinweg völlig beschwerdefrei blieben, gaben vier Probanden folgende von der Medikamenteneinnahme abhängige Beschwerden an:

Proband 3: "Magenschmerzen",

Proband 4: "Magenschmerzen",

Proband 5: "Magenschmerzen, Obstipation, Kopfschmerzen",

Proband 6: "Diarrhoen".

4. Diskussion

4.1. Zellturnover und seine Beeinflussung durch Carbenoxolon - Literaturübersicht

An der Magenschleimhaut findet physiologischerweise ein ständiger Zellturnover statt.

Mithilfe des von Croft und Mitarbeitern entwickelten Verfahrens der Magenwaschung (7) ist es möglich, die Menge der pro Minute abgeschilferten Epithelzellen und damit den Turnover der Magenschleimhaut beim Menschen zu bestimmen. Da jede Zelle die gleiche Menge DNA enthält, erlaubt die Bestimmung der DNA-Konzentration im Aspirat den Rückschluß auf die Anzahl der abgeschilferten Zellen.

Croft konnte beim Magengesunden einen durchschnittlichen Zellverlust von einer halben Million Epithelzellen pro Minute ermitteln (4). Er beobachtete weiterhin, daß dieser basale Zellturnover bei Patienten mit atrophischer Gastritis bis um das Vierfache erhöht ist (5).

Hagel zeigte auf, daß auch bei Ulcus-ventriculi-Patienten der Zellturnover der Magenschleimhaut weit über dem Normalwert liegt (17).

Lipkin et al. wiesen an der Magenschleimhaut der Maus mittels radioaktiv markierten ^3H -Thymidins unter Carbenoxolon eine Verlangsamung des Zellturnovers nach (21).

Croft bestätigte diese Wirkung bei einem Patienten mit atrophischer Gastritis, dessen pathologisch gesteigerte Zellturnoverrate nach dreiwöchiger Therapie mit Carbenoxolon auf Normalwerte zurückging (4).

Hagel stellte bei 17 Patienten mit Ulcus ventriculi und erhöhter Zellumsatzrate der Magenschleimhaut fest, daß die Behandlung mit Carbenoxolon ebenfalls zu einem signifikanten Abfall des Zellumsatzes auf normale Werte führte (17).

4.2. Wirkung von Carbenoxolon auf den basalen Zellturnover der Magenschleimhaut beim Magengesunden

In der vorliegenden Studie zeigte sich bei den sechs magengesunden Probanden weder im Akut- noch im Langzeitversuch eine einheitliche und eindeutige Wirkung des Carbenoxolons auf die basale Zellumsatzrate:

Bei den einzelnen Versuchspersonen wechselten nach Carbenoxolonverabreichung geringfügige Anstiege des Zellturnovers mit geringen Abfällen oder gleichbleibenden Plateaus willkürlich miteinander ab. Es ließen sich weder inter- noch intraindividuell einheitliche Reaktionsmuster erkennen, sodaß die vorliegenden Ergebnisse keinen Schluß auf eine Carbenoxolon-induzierte Beeinflussung des basalen Zellturnovers der Magenmukosa beim Magengesunden zulassen.

4.3. Wirkung von Carbenoxolon auf den Äthanol-induzierten Zellturnover der Magenschleimhaut beim Magengesunden

Neben bestimmten Medikamenten, wie z. B. Acetylsalicylsäure und Phenylbutazon, oder anderen Stoffen, wie Pfeffer oder Kautabak, gilt auch Alkohol als Stimulus der Epithelzelldesquamation der Magenschleimhaut (4, 17).

In der vorliegenden Untersuchung bewirkte die Verabreichung von Carbenoxolon im Akutversuch einen signifikanten Anstieg des Äthanol-induzierten Zellturnovers bei allen sechs Probanden. Auch nach vierwöchiger Einnahme von Carbenoxolon war die stimulatorische Wirkung dieses Medikamentes auf die Äthanol-induzierte Zellabschilferung bei fünf von sechs Probanden deutlich zu erkennen.

4.4. Deutung der Ergebnisse

4.4.1. Wirkung von Carbenoxolon auf die Mukussekretion

Wie ist der Anstieg des Äthanol-induzierten Zellturnovers durch Carbenoxolon zu erklären?

Zur Beantwortung dieser Frage erscheint es notwendig, an den Einfluß des Carbenoxolons auf die gastrale Schleimproduktion zu erinnern, der von zahlreichen Autoren bereits beschrieben (13, 14, 15, 17, 20), in der vorliegenden Studie allerdings nicht untersucht wurde:

Carbenoxolon bewirkt eine Steigerung der Mukussekretion bei gleichzeitiger Verbesserung der Schleimqualität. Die Anregung der Schleimproduktion führt zu einer Proliferation von glykoproteinhaltigen Granula in den Deckepithelzellen, die mittels Exocytose "sezerniert" werden. Gleichzeitig ist eine Steigerung der Schleimabgabe aber auch durch Intensivierung der Exfoliation schleimhaltiger Deckepithelien oder durch Entleerung der ortsständigen Becherzellen ("Expulsion") (26, 27) denkbar. Das Produkt dieser drei Vorgänge bleibt als Mukusschicht mit der Schleimhautoberfläche zunächst als adhärente "Schutz"-Schicht in Verbindung. Die Schleimschicht enthält außer Glykoproteinen natürlich auch die desquamierten Deck- und Becherzellen. Der Mechanismus der vermehrten Schleimabgabe durch Exfoliation und Expulsion könnte die unter Carbenoxolon-Einwirkung beobachtete Zunahme des Zellturnovers erklären.

4.4.2. Auswirkungen der Alkoholschädigung der Magenschleimhaut auf die DNA-Bestimmung

Aus zahlreichen Untersuchungen geht hervor, daß Äthanol zu einer intrazellulären Schädigung der Magenschleimhautepithelien führt (11, 12, 18).

Eastwood und Kirchner konnten bei der licht- und elektronenmikroskopischen Betrachtung der Magenschleimhaut der Maus nach 2- bis 15-minütiger Vorbehandlung mit Äthanol (10%) und Äthanol (25%) leichte, mittelschwere und schwere Grade der Zellschädigung unterscheiden:

Geringfügige Veränderungen des Oberflächenepithels bestanden in der Verklumpung des Kernchromatins und der Auflockerung des Zytoplasmas.

Eine mittelschwere Beeinträchtigung manifestierte sich in der zunehmenden Kernverklumpung, Schwellung der Mitochondrien, Verzerrung der Zellmembran, Vakuolisierung des Zytoplasmas und dadurch bedingten Auseinanderdrängung der Schleimgranula.

Karyolyse und Zellruptur charakterisierten den schwersten Grad der Zellläsion.

Das Ausmaß der Epithelschädigung stieg mit zunehmender Alkoholkonzentration (12).

In einer späteren Studie bestätigten Eastwood und Erdmann bei der Applikation von Äthanol (5%), (10%), (15%) oder (30%) an der Magenschleimhaut des Hundes und anschließender Biopsie die o. a. Ergebnisse. Sie beschrieben zusätzlich eine Äthanol-induzierte Schleimablösung von der Epitheloberfläche und partielle Ausweitung der Interzellularräume, wobei jedoch die "tight junctions" intakt blieben. Eastwood et al. schlossen allerdings die Möglichkeit nicht aus, daß der Alkohol eine transiente, kurzzeitige Beeinträchtigung dieser Interzellularbrücken verursacht (11).

Während in der vorliegenden Studie die auf dem Oberflächenepithel haftende Schleimschicht bei der Spülung mit NaCl-Lösung (0,9 %) im wesentlichen unberührt blieb, wird sie durch den physikalischen Lösungsmittelleffekt des Alko-

hols angegriffen und zum Teil von der Schleimhaut abgelöst (22). Die darunter liegenden Zellen und ihre Interzellularbrücken sind damit der schädigenden Alkoholwirkung schutzlos ausgeliefert. Dies hat zur Folge, daß die Zellmembran einzelner Epithelien lysiert wird, sodaß sich der Zellinhalt ins Magenlumen entleert. Auf diese Weise geht der in den Zelltrümmern und Epithelbruchstücken enthaltene DNA-Anteil bei der Diphenylaminreaktion mit in die DNA-Bestimmung ein. Andere Zellen werden aus ihrem Zellverband herausgelöst und abgestoßen. Mit anderen Worten: Exfoliation und DNA-Expulsion sind an der Zunahme der DNA-Auswaschrates gleichermaßen beteiligt (11, 12).

4.4.3. Dauer der Wirkungsentfaltung des Carbenoxolons

Der DNA-Anstieg war im Langzeitversuch wohl deutlich zu erkennen, erreichte aber nur im Akutversuch statistische Signifikanz. Es ist nun fraglich, ob sich der Einfluß von Carbenoxolon auf die Schleimproduktion im Magen innerhalb von 45 Minuten (Zeitspanne zwischen Carbenoxoloninstillation und Waschung D) auswirken kann?

Die Zeitdauer bis zur Wirkungsentfaltung des Carbenoxolons müßte also im Rahmen einer weiteren Studie nachgeprüft werden.

4.4.4. Wertigkeit der Zellabschilferung als Maß für die Zytoprotektion

Zytoprotektion kann als Verhinderung nekrotisierender Vorgänge durch schädigende Agentien oder als Aufrechterhaltung der funktionellen Schleimhautintegrität definiert werden.

Das Postulat der vorliegenden Studie besagt, daß die Menge der abgeschilferten Zellen ein Maß für die Schädigung der Schleimhaut darstellt. Dieses Postulat trafe jedoch nicht zu, wenn die Erhöhung der DNA-Menge nach Zufuhr von Äthanol nur auf einer erhöhten Epithelzellgewinnung aufgrund der Carbenoxolon-induzierten Steigerung der Mukusproduktion und nachfolgender Herauslösung des Schleims durch den Alkohol beruhte. Der DNA-Anstieg in der Spülprobe wäre in diesem Falle nicht Ausdruck der Erhöhung des Zellturnovers der Magenschleimhaut, sondern nur ein indirekter Hinweis auf die Carbenoxolon-induzierte Mukusproduktion und -sekretion.

4.4.5. Wertigkeit der Untersuchungsmethode

Eine kritische Haltung erfordert die Beurteilung der angewandten Untersuchungstechnik, der von Croft entwickelten Bestimmung der Abschilferungsrate der Magenschleimhaut. Sie zeichnete sich in dieser Studie zwar durch gute Reproduzierbarkeit aus, jedoch besteht offensichtlich ihr Nachteil darin, daß mit ihr keine Differenzierung zwischen alten, im Schleim enthaltenen, und frisch desquamierten Zellen möglich ist.

Diese Untersuchungen schließen außerdem auch nicht aus, daß Carbenoxolon gegenüber anderen Aggressoren als dem sehr unspezifisch schädigenden Alkohol doch einen zytoprotektiven Effekt besitzen könnte.

Es bietet sich daher an, die Studien zur Zytoprotektion durch Carbenoxolon unter Verwendung anderer Noxen, wie z. B. Acetylsalicylsäure oder Indometacin, zu wiederholen, da besonders diejenigen Patienten einer effektiven schleimhautschützenden Prophylaxe bedürfen, die zur Entwicklung von Magengeschwüren bei der Behandlung mit nichtsteroidalen Antirheumatika neigen.

5. Zusammenfassung

Bei sechs gesunden Freiwilligen wurde im Akutversuch mit und ohne Carbenoxolon sowie nach vierwöchiger Einnahme von Carbenoxolon bzw. eines Placebopräparates die basale und die Äthanol-induzierte Turnoverrate der Magenschleimhaut gemessen.

Während die Verabreichung von Carbenoxolon keinen feststellbaren Einfluß auf den basalen Zellturnover ausübte, waren sowohl im Akut-, als auch im Langzeitversuch Anstiege des Äthanol-induzierten Zellturnovers auf das 3-fache des Basalwerts zu beobachten.

Der Zellturnover gilt als ein Maß für die Desquamationsrate der Magenschleimhaut und damit für die Menge der abgeschilferten Zellen.

Die gemessene Erhöhung des Zellturnovers unter Carbenoxolon nach Zufuhr von Äthanol (40%) könnte auf einer vermehrten Epithelzellgewinnung aufgrund der Carbenoxolon-induzierten Steigerung der Mukusproduktion und nachfolgender Herauslösung des Schleims mitsamt den darin enthaltenen Zellen und Epithelfragmenten durch den Alkohol beruhen.

Literaturverzeichnis

1. Bethke, P. L., Palme, G.: Die Therapie des Geschwürsleidens mit Carbenoxolon.
In: Med. Welt 22 (N. F.): 1892-1894 (1971)
2. Cocking, J. B., Mac Caig, J. N.: Effect of low dosage of carbenoxolone sodium on gastric ulcer healing and acid secretion.
Gut 10: 219-225 (1969).
3. Croft, D. N.: Gastric epithelial turnover and its clinical significance.
Rendic. Gastroenterol. 5, 73 (1973).
4. Croft, D. N.: Gastritis - cell turnover studies.
In: Topics in Gastroenterology, Ed. by S. C. Truelove, D. P. Jewell, Blackwell, Oxford, 58-64 (1973).
5. Croft, D. N., Cotton, P. B.: Gastro-Intestinal Cell Loss in Man.
Digestion 8: 144-160 (1973).
6. Croft, D. N., Lubran, M.: The estimation of DNA in the presence of sialic acid: Application to analysis of human gastric washings.
Biochem. J. 96, 612-620 (1965).
7. Croft, D. N., Pollock, D. J., Coghill, N. F.: Cell loss from human gastric mucosa measured by the estimation of DNA in gastric washings.
Gut 7: 333-343 (1966).
8. Doll, R., Hill, J. D., Hutton, C. F.: Treatment of gastric ulcer with carbenoxolone sodium and oestrogens.
Gut 6: 19 (1965).
9. Domschke, W.: Bedeutung der N-Azetylneuraminsäure im Magensaft - ein therapeutischer Aspekt.
In: Demling, L. (Hrsg.): Das peptische Ulkus.
Schattauer, Stuttgart-New York 1973.

10. Domschke, W., Domschke, S., Classen, M., Demling, L.:
International Conference on Experimental
Ulcer.
Cologne 1972.
11. Eastwood, G. L., Erdmann, K. R.: Effect of ethanol
on canine gastric epithelial ultrastruc-
ture and transmucosal potential diffe-
rence.
Digestive Diseases 23: 429-435, 1978.
12. Eastwood, G. L., Kirchner J. P.: Changes in the fine
structure of mouse gastric epithelium pro-
duced by ethanol and urea.
Gastroenterol. 67: 71-84, 1974.
13. Gheorghiu, Th., Frotz, H., Klein, H.-J., Hübner, G.:
Carbenoxolon und Mukussekretion.
Urban & Schwarzenberg,
München-Berlin-Wien 1974.
14. Goodier, T. E.: Histopathology of gastric ulcers
treated with carbenoxolone.
In: Robson, J. M., Sullivan, F. M.
(Edit.): A symposium on carbenoxolone
sodium.
Butterworths, London 1968.
15. Goodier, T. E., Horwich, L., Galloway, R. W.:
Morphological observations on gastric
ulcers treated with carbenoxolone sodium.
Gut 8: 544-547 (1967).
16. Hampel, K. E., Billich, C., Dannenmeier, H. D.,
Fintelmann, V., Fischer, R., Schmid, E.,
Treske, U., Walz, A.:
Therapie des ulcus ventriculi et duodeni
mit Carbenoxolon-Na (Doppelblindversuch).
Münch. Med. Wschr. 19: 925-929 (1972).
17. Hagel, J.: Wirkung von Carbenoxolon auf die Magen-
schleimproduktion im Vergleich zum Turn-
over der Magenschleimhaut.
Inaugural-Dissertation.
Universität Erlangen-Nürnberg 1976.

18. Hingson, J. D., Ito, S.: Effect of aspirin and related compounds on the fine structure of mouse gastric mucosa.
Gastroenterol. 61: 156-176, 1971.
19. Kunz, O.: Moderne Behandlung des Gastro-Duodenal-Ulkus in der Geriatrie.
Aktuelle Gerontologie, Bd. 2, Heft 5,
Georg Thieme Verlag. Stuttgart 1972.
20. Lipkin, M.: In "defence" of the gastric mucosa.
Gut 12: 599-603 (1971).
21. Lipkin, M.: Carbenoxolone sodium and the rate of extrusion of gastric epithelial cells.
In: Baron, J. H., Sullivan, F. M.
(Edit.): Carbenoxolone Sodium, 11-15,
Butterworths, London (1970).
22. Ruppín, H., Person, B., Robert, A., Domschke, W.:
Gastric Cytoprotection in Man by
Prostaglandin E₂.
Scand. J. Gastroent. 16: 647-652, 1981.
23. Sachs, L.: Statistik.
Berlin Heidelberg New York, Springer
(1972).
24. Schacherer, P.: Erfahrungen mit Carbenoxolon bei der
Behandlung des Magen- und Duodenalulkus.
Therapiewoche 21, 35, 2522 (1971).
25. Schiemann, W. H. L.: Moderne Ulkustherapie mit
klinischer, röntgenologischer und endo-
skopischer Abheilungskontrolle.
Zschr. f. Allgemeinmed. 2: 71-74 (1972).
26. Yeomans, Neville D., Millar, Susan J.: Synthesis and
Secretion of Glycoproteins by Mucosa of
Rat Gastric Antrum in Organ Culture.
Digestive Diseases and Sciences 25:
295-301, 1980.
27. Zalewsky, Charlotte A., Moody, Frank G.:
Mechanisms of Mucus Release in Exposed
Canine Gastric Mucosa.
Gastroenterol. 77: 719-729, 1979.

Herrn Professor Dr. med. L. Demling, Herrn Professor Dr. med. W. Domschke, und im besonderen Herrn Priv. Doz. Dr. med. H. Ruppin und Herrn Dr. med. J. Hagel danke ich für die Überlassung des Themas, die Benutzung der für die Untersuchungen und Analysen notwendigen Laboreinrichtungen und die Betreuung und Beratung beim technischen Teil sowie bei der schriftlichen Ausführung meiner Arbeit.

Lebenslauf

Ich wurde am 5. Februar 1958 als zweites Kind des Zollbeamten Anton Sporer und seiner Frau Josefa, geb. Pirzl, in Furth i. Wald geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Furth i. Wald trat ich 1968 in das Robert-Schuman-Gymnasium in Cham über, an dem ich 1977 das Abitur ablegte.

Im November 1977 nahm ich an der Universität Regensburg das Studium der Humanmedizin auf und führte es nach Ablegung des Physikums im Herbst 1979 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen fort.

Mein Studienabschluß erfolgte mit der Absolvierung der Dritten Ärztlichen Prüfung am 12. Oktober 1983 und der mündlichen Abschlußprüfung am 27. Oktober 1983.

